

## MEDICIÓN DE LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA EN LECHE COMO MÉTODO DIAGNÓSTICO DE MASTITIS SUBCLÍNICA BOVINA\*

ELIZALDE, E. F.<sup>1</sup>; SIGNORINI, M. L.<sup>2,3</sup>; CANAVESIO, V. R.<sup>2</sup>;  
CUATRIN, A.<sup>2</sup>; TARABLA, H. D.<sup>1,2</sup> & CALVINHO, L. F.<sup>1,2</sup>

### RESUMEN

Se evaluó la medición de la conductividad eléctrica (CE) de la leche en línea y a través de un conductímetro de mano, como método diagnóstico de infecciones intramamarias (IIM). Como patrones para definir la clasificación de sano o enfermo se utilizaron: el aislamiento de bacterias patógenas, de patógenos mayores y la conjunción de aislamiento y recuento de células somáticas (RCS) superior a 500.000 células/mL de leche. La medición de la CE como técnica para diagnosticar IIM tuvo mejor desempeño cuando se realizaron mediciones a partir de leche proveniente de cada cuarto mamario. La CE absoluta de la leche en pool se mostró ineficiente para discriminar los casos de IIM, a diferencia de la CE diferencial que requiere la determinación de valores de CE independiente para cada cuarto mamario. Si bien el poder discriminatorio de la CE varía según el criterio de caso de IIM que se utilice, las áreas bajo la curva ROC fueron moderadas cuando se aplicaron a cada cuarto mamario independientemente, con valores de sensibilidad cercanos al 80%, aunque la tasa de falsos positivos fue de aproximadamente el 50%. Si bien estos valores estimados no fueron muy elevados, la técnica resulta de utilidad para identificar precozmente animales con IIM, siendo una técnica diagnóstica de bajo costo y fácil determinación y resultado inmediato.

*Palabras claves:* conductividad eléctrica, mastitis, diagnóstico, leche.

### SUMMARY

#### **Detection of bovine subclinical mastitis using electric conductivity.**

On line measurement of electrical conductivity (EC) and a cow-side EC detector for intramammary infection (IMI) diagnosis were compared. Criteria for defining subclinical IMI were: isolation of mastitis pathogens, isolation of major mastitis pathogens and both isolation of mastitis pathogens and somatic cell count >500.000 cells/ml. Determination of quarter EC performed better than on line measurements. On line EC was inefficient for discriminating cows with or without IMI. However,

---

1.- Departamento de Producción Animal; Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral. R.P. Kreder 2805, Esperanza, Santa Fe. Email: [elizalde@fcv.unl.edu.ar](mailto:elizalde@fcv.unl.edu.ar)

2.- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA Rafaela. Ruta 34, km 227. Rafaela. Santa Fe.

3.- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

\* Trabajo subsidiado CAID 2002 Universidad Nacional del Litoral, Resolución CS 108 (23/7/02).

Manuscrito recibido el 15 de agosto de 2008 y aceptado para su publicación el 13 de abril de 2009.

differential EC, which yields a single value derived from individual quarter determinations, showed an acceptable performance. Although EC discrimination power varies according to criteria used to define IMI, area under a ROC curve was moderated when applied to independent mammary quarters, with sensitivity values near to 80% and false positive rate approximately 50%. These estimated values were not high; however, this method was useful to promptly identify animals with an IMI. In addition, the method is based on low cost technology, is easy to perform and yields an immediate result.

*Key words:* electrical conductivity, mastitis, diagnostic, milk.

## INTRODUCCIÓN

La mastitis bovina es reconocida como la enfermedad más costosa de los sistemas productivos lecheros. Las pérdidas son múltiples y provienen desde la disminución de la producción hasta la muerte de animales (Beck *et al.*, 1992; Lescouret & Coulon, 1994). En la Argentina los trabajos realizados por ALMAST (1983), son coincidentes con los realizados en países con mayor desarrollo lechero que estiman que las pérdidas por vaca y por año oscilan entre U\$S 90 y U\$S 184 (Crist *et al.*, 1997; Jones, 1998). El efecto que causa la mastitis sobre la producción de leche y la importancia de ésta con relación a las pérdidas producidas, hacen que el diagnóstico y tratamiento precoz de la misma sean de gran importancia para el monitoreo y control de esta enfermedad.

Los métodos de diagnóstico de mastitis pueden ser directos o indirectos. El método directo es el análisis bacteriológico, dirigido a detectar al microorganismo causante de la infección intramamaria (IIM). Los métodos indirectos reflejan alteraciones en la composición de la leche debidas a la inflamación, midiendo distintos aspectos de la secuencia de cambios que tienen lugar cuando la glándula está infectada por un organismo patógeno (Sandholm, 1995). Dentro de los métodos indirectos, los más frecuentemente utilizados son la medición de la conduc-

tividad eléctrica (CE) y el recuento de células somáticas (RCS).

La medición de la CE de la leche fue propuesta como una técnica de alta eficacia para la detección de la mastitis ya desde 1942 (Davis, 1975). Desde entonces, se realizaron numerosos estudios con distintos tipos de conductímetros, desde aquellos utilizados en el laboratorio hasta los modernos incorporados a los colectores como parte de los sistemas de ordeño (Lake *et al.*, 1992; Maatje y Rossing, 1993; Nielen *et al.*, 1994), o también aquellos manuales que han sido diseñados para su utilización al pie de la vaca (Chamings *et al.*, 1984; Musser *et al.*, 1998). Los conductímetros detectan la alteración de la composición iónica de la leche causada principalmente por la inflamación de la glándula mamaria, manifestada por un aumento de la concentración de sodio y cloro, con un consecuente incremento de la concentración iónica total y con ésta de la CE total (Linzell & Peaker, 1972).

El aumento en el tamaño de las explotaciones tanto en número de vacas como en producción hacen necesaria la automatización de muchas de las prácticas de rutina, como la extracción de las pezoneras, la medición de la producción, del consumo y la identificación del estado sanitario mamario. Los sistemas automáticos en línea permiten la medición de la CE en leche proveniente de los cuatro cuartos durante el ordeño en for-

ma inmediata (Hillerton, 2000; Moallem *et al.*, 2002). Si bien evaluar la CE de leche proveniente de los cuatro cuartos en forma conjunta puede reducir la eficacia de detección, se ha sugerido que el análisis de datos de CE provenientes de ordeños consecutivos podría superar este inconveniente (Shoshani y Berman, 1998). Existen otras variables aparte de la presencia de una IIM, como el estrés térmico y la actividad excesiva del animal, entre otras (Linzell and Peaker, 1975; Rysanek *et al.*, 1984; Barth and Kraetzl, 2000), que pueden influenciar la CE. Esto determina la necesidad de evaluar la eficacia de la medición de la CE para detectar mastitis, tomando en consideración los sistemas de explotación propios de cada región.

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la utilidad de la medición de la CE a través de un sistema en línea y uno manual para detectar IIM subclínicas en vacas de un tambo con un sistema de producción en pastoreo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Rodeo experimental**

El presente trabajo se llevó a cabo en la Estación Experimental Agropecuaria Rafaela del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. El estudio fue realizado en un rodeo de 150 vacas Holstein en condiciones de pastoreo y con suministro de concentrados durante el ordeño, bajo un régimen de dos ordeños diarios con intervalos de doce horas entre cada uno. El ordeño se realizó con un equipo Alfa Laval dotado para medir la CE en la línea de leche con un sistema computarizado (Afikim®, Israel).

### **Toma de muestras**

Las muestras se obtuvieron en el ordeño de la tarde luego de descartar los primeros

chorros de leche. Para la realización de los análisis bacteriológicos se recolectó leche de los cuatro cuartos previa desinfección de la punta de los pezones con algodón embebido en alcohol 70%, utilizando tubos estériles, de acuerdo con procedimientos estándar (Hogan *et al.*, 1999). Las muestras fueron refrigeradas durante el transporte al laboratorio y congeladas hasta su procesamiento a -20°C por períodos de aproximadamente dos meses. Para recuento de células somáticas (RCS) se tomó una muestra de cada cuarto y otra correspondiente al pool de leche, estas muestras se obtuvieron luego de haber extraído las muestras destinadas al análisis bacteriológico, recogiéndose en tubos herméticos, que contenían dicromato de potasio en una concentración final del 0,02%. Se refrigeraron a temperaturas entre 1°C y 4°C y se enviaron al Laboratorio Regional de Servicios Analíticos en Esperanza, Santa Fe, para su procesamiento.

### **Análisis bacteriológicos**

Las muestras se procesaron de acuerdo con metodología estándar (Hogan *et al.*, 1999). Brevemente, se sembraron en agar sangre ovino al 5% con un ansa calibrada de 0,01 ml y fueron incubadas por 48h a 37°C. La identificación bioquímica se realizó siguiendo procedimientos estándar (Hogan *et al.*, 1999). Los cocos Gram positivos, catalasa positivos fueron identificados sobre la base de morfología colonial, producción de hemólisis y prueba de coagulasa en tubo. Además los *Staphylococcus* coagulasa negativos (SCN) fueron diferenciados de los organismos del género *Micrococcus* sobre la base de la prueba de la oxidación-fermentación de la glucosa (Carter *et al.*, 1995). Los cocos Gram positivos catalasa negativos fueron clasificados sobre la base de morfología colonial, prueba de CAMP, hidrólisis de la esculina, crecimiento en caldo cloruro

de sodio y utilización de hipurato de sodio. Los organismos del género *Corynebacterium* fueron caracterizados sobre la base de la morfología colonial en agar sangre, prueba de catalasa y coloración de Gram. De acuerdo con las definiciones clásicas (FIL/IDF, 1999) fueron considerados como patógenos mayores aquellos organismos con capacidad para infectar la glándula mamaria, causando un daño económico medible (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus* spp. y *Staphylococcus aureus*), mientras que SCN, *Micrococcus* spp. y *Corynebacterium* spp. fueron considerados como patógenos menores.

#### **Recuento de células somáticas**

El RCS en leche se realizó a través de la citometría de flujo (Hageltorn & Saad, 1986; Miller *et al.*, 1993; Pillai *et al.*, 2001), utilizando un equipo automático (Somacount 300, Bentley Instruments- Minnesota-USA).

#### **Medición de la conductividad eléctrica**

La CE en línea fue registrada a través del equipo de ordeño (Alfa Laval, Afikim®, Israel), el cual realizó la medición mediante un conductímetro instalado en el colector de cada unidad de ordeño, registrándose y almacenándose el valor extremo superior ( $\pm 1 \text{ ohm}^{-1}$ ). Los datos se recopilaron en forma de promedio de cada día, expresado en miliSiemens/pulgada ( $\text{mS}''$ ).

La CE por cuartos se registró inmediatamente después de tomadas las muestras para el análisis bacteriológico y las destinadas al RCS, empleándose un conductímetro manual (MILK CHECKER, Eisai Co. Ltd. Tokio, Japón). La medición se realizó en miliSiemens/centímetro ( $\text{mS/cm}$ ) y fue convertida a  $25^\circ\text{C}$ . Con el objetivo de mejorar la utilidad de las mediciones por cuarto mamario, se propuso

realizar la ponderación de esas mediciones efectuando la tasa intercuarto de CE (CE diferencial), dividiendo el valor de la lectura de cada cuarto por la menor de ellas. A esta última se le otorga el valor de uno, de esta manera se eliminan en el análisis de los datos todas las causas sistémicas que afectan la CE de la leche producida en los cuatro cuartos (Oshima, 1977; Gebre-Egziabher *et al.*, 1979; Emanuelson *et al.*, 1987; Jensen & Knudsen, 1991; Maatje & Rossing, 1993).

#### **Definición de caso de IIM subclínica**

Para los fines del presente trabajo, se definió como leche en pool, a la mezcla de leche producida por los cuatro cuartos mamarios en conjunto. Sobre esta leche se midió la CE absoluta (en  $\text{mS}''$ ) por medio del equipo en línea.

Además, a través del uso del conductímetro manual se obtuvo la CE absoluta de cada cuarto mamario y también la CE diferencial. La CE absoluta es la medición directa en la leche, mientras que la CE diferencial es el cociente de la CE de la leche producida por cada cuarto mamario sobre la menor de ellas. Para la leche de cada uno de los cuartos mamarios analizada independientemente, se registró la CE absoluta medida en  $\text{mS/cm}$  (Linzell y Peaker, 1975).

Se utilizaron tres criterios para definir los casos de IIM subclínica: a) en el primer caso aquellos animales que tuvieron aislamiento de microorganismos patógenos (tanto mayores como menores); b) el segundo criterio cuando el aislamiento correspondió a un patógeno mayor; c) el restante criterio cuando la leche de los animales presentaban simultáneamente un recuento de células somáticas superior a las 500.000 células  $\text{nL}$  y aislamiento de un microorganismo patógeno, siendo un caso negativo cuando el animal no presentaba ninguno de las dos condiciones. El valor de corte de 500.000 células

somáticas fue elegido, con base en los resultados obtenidos, por presentar una baja tasa de falsos negativos en animales sin aislamiento de patógenos mamarios.

El valor de corte, la sensibilidad y la especificidad del ensayo se calcularon utilizando las definiciones de caso confirmado y casos negativos como patrón. Para determinar el valor de corte óptimo se calculó el área bajo la curva de eficacia diagnóstica (curva ROC, del inglés Receiver Operating Characteristics) (Handley & McNeil, 1982) para cada definición de caso utilizando el programa Med-calc® versión 9.5.2.0. El punto de corte fue calculado como el punto a partir del cual se obtuvieron los mejores porcentajes de sensibilidad y especificidad, para el método propuesto.

Para hallar los valores predictivos positivo (VP+) y negativo (VP-) de la técnica diagnóstica, se desarrolló un modelo cuantitativo de predicción, el cual incluyó los siguientes criterios:

- Número de vacas en ordeño (n): 150
- Prevalencia de IIM ( $p_{IIM}$ ): se obtuvo a partir de los muestreos realizados teniendo en cuenta el aislamiento de patógenos mayores y RCS superior a 500.000 células/mL como criterio de positividad.
- Número de animales con IIM ( $n_{IIM}$ ):  $\sim$  Binomial( $n, p_{IIM}$ ).
- Número de animales sin IIM ( $n_{sIIM}$ ):  $n -$  Número de animales con IIM
- Sensibilidad (S) y especificidad (E) de la prueba diagnóstica obtenidos luego del análisis de los datos, incorporados al modelo como distribuciones binomiales:
  - o Número de vacas con IIM y positivas a la prueba diagnóstica  $\sim$  Binomial( $n_{IIM}, S$ ).
  - o Número de vacas sin IIM y negativas a la prueba diagnóstica  $\sim$  Binomial( $n_{sIIM}, E$ )

Los criterios fueron incluidos en el modelo utilizando el programa @Risk® versión 4.5 (Palisade, New York). Posteriormente se rea-

lizaron 5.000 iteraciones del mismo empleando la técnica de simulación Monte Carlo, a partir del cual se generaron las distribuciones de probabilidad para estimar los VP+ y VP- de la prueba diagnóstica.

## RESULTADOS

### *Leche en pool*

Empleando el criterio que consideró como caso subclínico al aislamiento de patógenos mamarios, no existieron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,0879$ ) entre el área bajo la curva ROC generada por la determinación de la CE absoluta y de la CE diferencial. Sin embargo, se obtuvieron diferencias significativas en el área bajo la curva ROC cuando se emplearon como criterios de caso subclínico el aislamiento de patógenos mayores ( $p < 0,001$ ) y el aislamiento de patógenos más un RCS  $> 500.000$  células nL ( $p < 0,0001$ ); siendo la CE diferencial la técnica diagnóstica evaluada con mayor área observada (Figs. 1 y 2, Cuadro 1).

Los mejores resultados, medidos en función del área bajo la curva ROC, se obtuvieron empleando la técnica de CE diferencial y cuando el criterio de caso de IIM fue la presencia conjunta de aislamiento bacteriano y un RCS superior a las 500.000 células/ml de leche con un valor de área bajo la curva ROC de 0,82 y niveles estimados de sensibilidad y especificidad para la técnica evaluada moderados de 78,0% y 79,1%, respectivamente.

### *Leche de cuartos mamarios individuales*

Empleando la CE como técnica diagnóstica, no fue posible discriminar casos de IIM cuando se aplicó como criterio de caso el aislamiento, tanto de patógenos mayores como menores, en un cuarto mamario ( $p < 0,203$ ), con un área bajo la curva ROC de

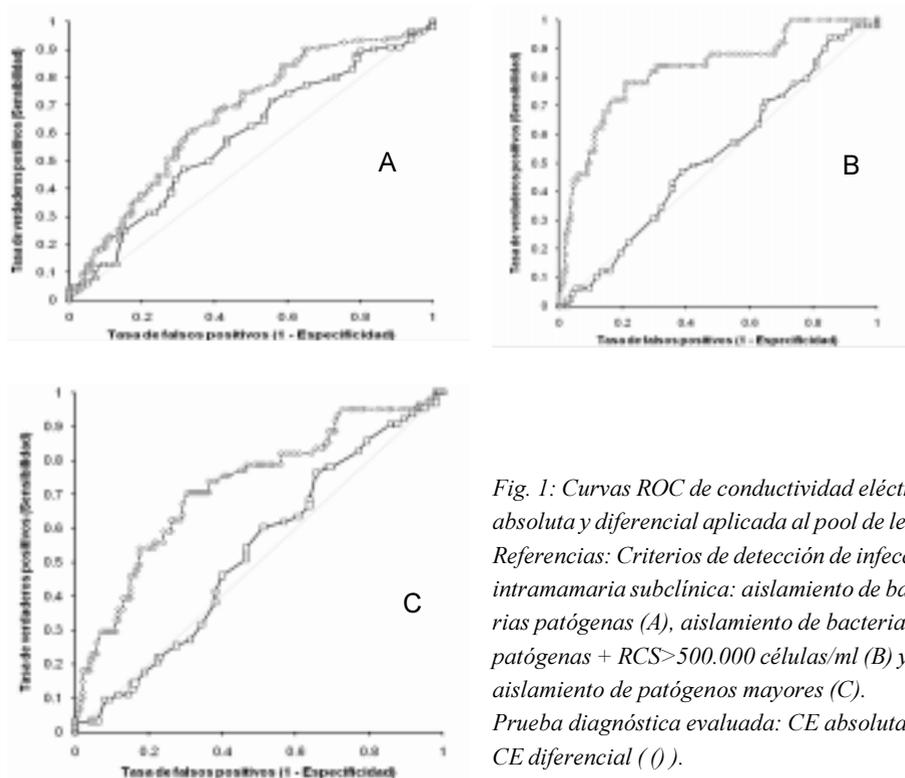


Fig. 1: Curvas ROC de conductividad eléctrica absoluta y diferencial aplicada al pool de leche. Referencias: Criterios de detección de infección intramamaria subclínica: aislamiento de bacterias patógenas (A), aislamiento de bacterias patógenas + RCS > 500.000 células/ml (B) y aislamiento de patógenos mayores (C). Prueba diagnóstica evaluada: CE absoluta (□), CE diferencial (○).

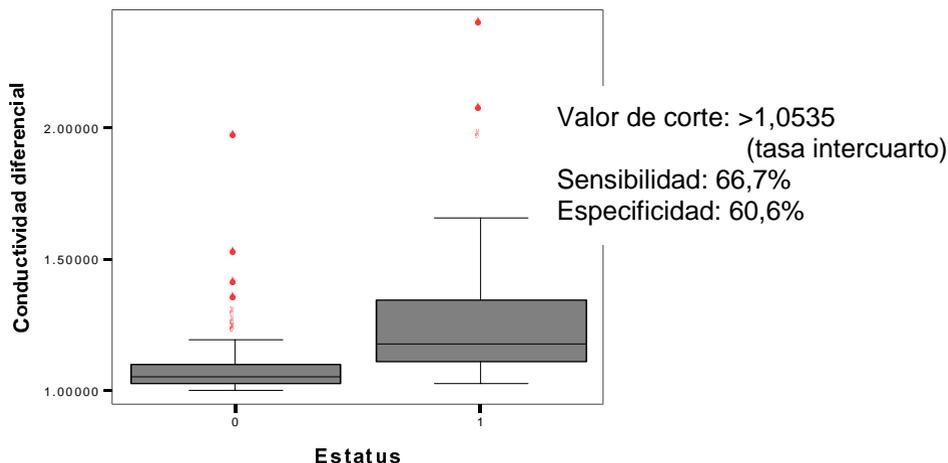


Fig. 2: Diagrama de caja de los resultados de la conductividad eléctrica diferencial para el diagnóstico de mastitis subclínica, empleando como criterio de selección de caso el aislamiento de patógenos. Estatus sanitario: caso (1) y no caso (0) de mastitis subclínica. Referencias: ○ Punto alejado entre 2 y 3 desviaciones estándar de la media de la distribución; \* Punto alejado a más de 3 desviaciones estándar de la media de la distribución.

*Cuadro 1: Sensibilidad, especificidad y valor de corte de la conductividad eléctrica (CE) para el diagnóstico de mastitis subclínica aplicada al pool de leche, empleando tres criterios de selección de casos.*

Criterio de "caso" de IIM	Técnica diagnóstica evaluada	Nº de muestras de casos confirmados	Nº de muestras de casos negativos	Valor de corte	Sensibilidad (%) (IC95%)	Especificidad (%) (IC95%)	Área bajo la curva ROC (IC95%)
Aislamiento de bacterias patógenas	CE absoluta	143	86	13,0 mS/cm	56,0 (47,4-64,4)	57,0 (45,8-67,6)	0,58 <sup>a</sup> (0,51-0,66)
	CE diferencial	134	82	1,0536*	66,7 (57,4-75,1)	60,6 (48,3-72,0)	0,66 <sup>a</sup> (0,59-0,74)
Aislamiento de bacterias patógenas + RCS>500.000	CE absoluta	50	148	11,1 mS/cm	93,9 (83,1-98,6)	14,5 (9,2-21,3)	0,52 <sup>a</sup> (0,43-0,62)
	CE diferencial	50	148	1,1026*	78,0 (64,0-88,5)	79,1 (71,2-86,0)	0,82 <sup>b</sup> (0,75-0,89)
Aislamiento de patógenos mayores	CE absoluta	64	161	13,9 mS/cm	77,0 (64,0-86,6)	34,3 (27,1-43,6)	0,53 <sup>a</sup> (0,44-0,61)
	CE diferencial	64	161	1,0877*	69,5 (56,1-80,8)	72,5 (64,0-80,0)	0,72 <sup>b</sup> (0,64-0,80)

Referencias: \* tasa intercuarto; <sup>ab</sup>) valores seguidos de distintas letras, diferencias significativas estadísticamente ( $p < 0,05$ ). IMI: infección intramamaria

0,54 (IC95% 0,50-0,59).

El área bajo la curva ROC para el empleo de la CE se incrementó cuando los criterios para definir un caso de IIM fueron el aislamiento de organismos patógenos más un RCS superior a las 500.000 células/ml en un cuarto mamario ( $p < 0,0001$ ) y el aislamiento de patógenos mayores ( $p < 0,0001$ ) (Figs. 3 y 4). Independientemente del criterio de caso empleado, el valor de corte fue coincidente en todos los casos ( $> 5,0$  mS/cm). Con este punto de corte se generaron valores estimados de sensibilidad moderados tanto cuando se empleó el criterio conjunto de aislamiento de patógenos más RCS elevados (79,2%, IC95% 69,7%-86,8%) como utilizando solo el aislamiento de patógenos mayo-

res (77,5%, IC95% 68,1%-85,1%). No obstante, empleando este valor de corte, la tasa de falsos positivos se acerca al 50%, es decir, que la discriminación de individuos que no poseen una IIM es similar al empleo del azar (Cuadro 2).

Para calcular los VP+ y VP-, se consideraron los valores de sensibilidad (79,2%) y especificidad (55,4%) obtenidos para la prueba diagnóstica cuando se empleó como criterio de IIM la presencia conjunta de aislamiento de patógenos más RCS elevados. Bajo este criterio, la prevalencia de IIM fue del 25% en el rodeo bajo estudio. El VP+ fue estimado en 37,18% (IC95% 26,6-48,1), mientras que el VP- fue, en promedio, de 88,88% (IC95% 80,8-95,6) (Fig. 5).

Cuadro 2: Sensibilidad, especificidad y valor de corte de la conductividad eléctrica para el diagnóstico de mastitis subclínica aplicada a leche proveniente de cada cuarto mamario, empleando tres criterios de selección de casos.

Criterio de "caso" de IIM	Nº de muestras de casos confirmados	Nº de muestras de casos negativos	Valor de corte (mS/cm)	Sensibilidad (%) (IC95%)	Especificidad (%) (IC95%)	Área bajo la curva ROC (IC95%)
Aislamiento de bacterias patógenas	270	578	5,0	55,6 (49,4-61,6)	52,2 (48,1-56,4)	0,54 <sup>a</sup> (0,50-0,59)
Aislamiento de bacterias patógenas + RCS>500.000	96	455	5,0	79,2 (69,7-86,8)	55,4 (50,7-60,0)	0,74 <sup>b</sup> (0,68-0,80)
Aislamiento de patógenos mayores	102	735	5,0	77,5 (68,1-85,1)	53,5 (49,8-57,1)	0,73 <sup>b</sup> (0,67-0,79)

Referencia: IMI: infección intramamaria; <sup>ab</sup>) valores seguidos de distintas letras, diferencias significativas estadísticamente ( $p < 0,05$ ).

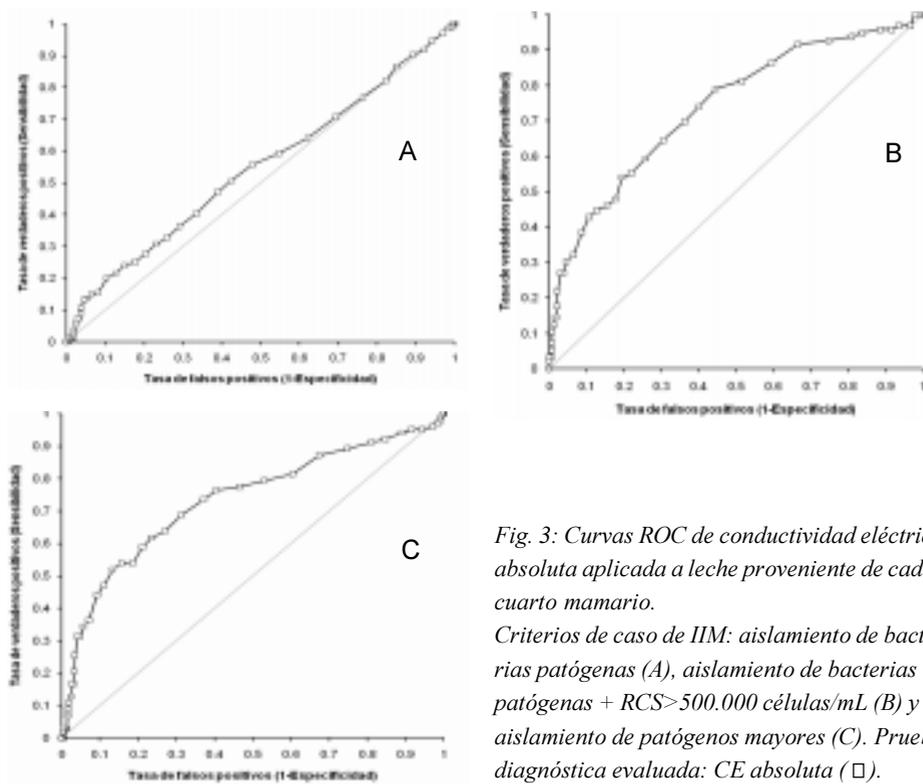


Fig. 3: Curvas ROC de conductividad eléctrica absoluta aplicada a leche proveniente de cada cuarto mamario.

Criterios de caso de IIM: aislamiento de bacterias patógenas (A), aislamiento de bacterias patógenas + RCS > 500.000 células/mL (B) y aislamiento de patógenos mayores (C). Prueba diagnóstica evaluada: CE absoluta (□).

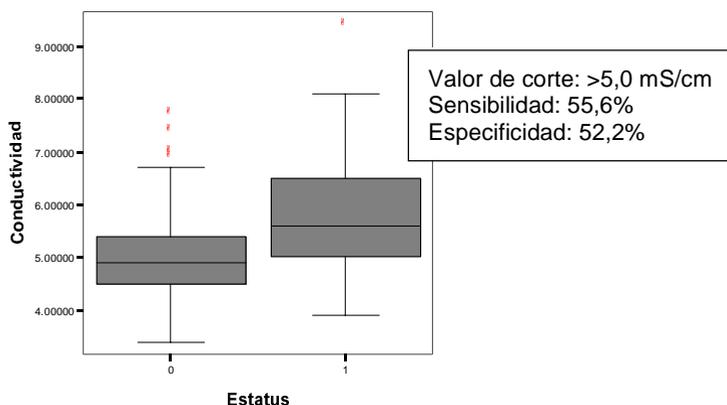


Fig 4: Diagrama de caja de los resultados de la conductividad eléctrica aplicada a leche proveniente de cada cuarto mamario para el diagnóstico de mastitis subclínica, empleando como criterio de selección de caso el aislamiento de patógenos.

Estatus sanitario: caso (1) y no caso (0) de mastitis subclínica.

Referencias: ○ Punto alejado entre 2 y 3 desviaciones estándar de la media de la distribución;

\* Punto alejado a más de 3 desviaciones estándar de la media de la distribución.

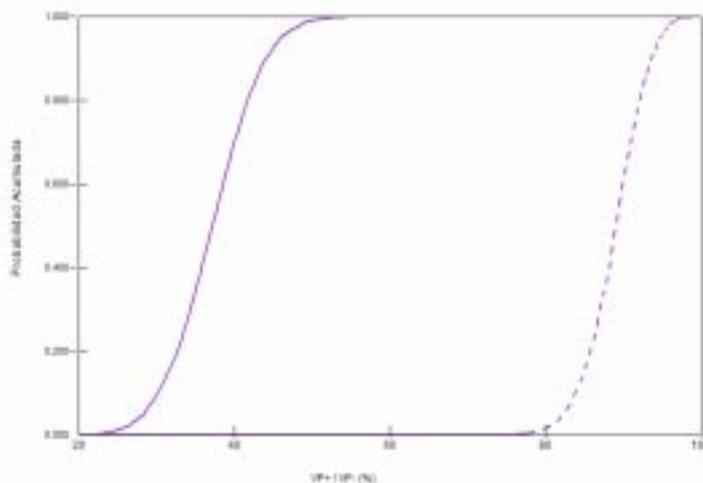


Fig 5: Distribución de probabilidad acumulada de los VP+ y VP- de la CE para el diagnóstico de mastitis subclínica aplicada a leche proveniente de cada cuarto mamario aplicada bajo condiciones de prevalencia a campo.

—— Valor predictivo positivo (VP+)

----- Valor predictivo negativo (VP-)

## DISCUSIÓN

El diagnóstico de mastitis subclínica puede realizarse a través de métodos directos e indirectos. El aislamiento de microorganismos causantes de IIM y el RCS son las pruebas diagnósticas más empleadas para tal fin, pero tienen limitaciones, entre las que se destacan la lentitud, laboriosidad y costo.

Los sistemas automáticos en línea permiten la medición de la conductividad eléctrica en leche proveniente de los cuatro cuartos durante el ordeño en forma inmediata y sin esfuerzo alguno (Hillerton, 2000; Moallem *et al.*, 2002). Algunos sistemas en línea permiten la medición de la CE en leche proveniente de los cuatro cuartos, mientras que otros, considerando aspectos fisiológicos de la glándula mamaria, miden la CE de cada cuarto en forma separada aumentando el poder discriminatorio del método de manera apreciable (Biggadike *et al.*, 2000 y 2002).

En cuanto a la aplicación de la CE en leche proveniente de los cuatro cuartos mamaros en pool, en el presente trabajo se realizaron dos pruebas utilizando la CE absoluta y la CE diferencial, la cual, si bien requiere del registro de CE en forma individual para cada cuarto, da un resultado aplicable a la totalidad de la glándula mamaria (Oshima, 1977; Maatje & Rossing, 1993). El empleo de la CE diferencial presentó un mayor poder discriminatorio que la utilización de un solo parámetro para clasificar la totalidad de la glándula mamaria.

El desempeño de la CE absoluta como técnica diagnóstica fue muy pobre, con valores estimados de área bajo la curva ROC inferiores a 0,58. Por el contrario, cuando se consideraron los registros arrojados por la CE diferencial, los mejores valores se obtuvieron cuando se propuso como criterio de selección de casos la detección de patógenos mamaros combinada con el RCS >500.000

cél./ml y el aislamiento de patógenos mayores, lo cual coincide con lo reportado por otros autores (Peaker, 1978; Sheldrake & Hoare, 1981; Fernando *et al.*, 1982 y 1985; McDaniel, *et al.*, 1998).

Algunos autores (Peaker, 1978; Sheldrake & Hoare, 1981; Fernando *et al.*, 1982, 1985; McDaniel, *et al.*, 1998) reportaron que la sensibilidad y especificidad de la CE era mayor cuando se consideraba la detección de patógenos mayores como criterio para definir un caso de IIM, en comparación con la detección de bacterias patógenas en general (patógenos mayores y menores). Este efecto solo pudo ser corroborado cuando se empleó leche proveniente de cada cuarto mamario en forma independiente. Lo anterior puede atribuirse a que la CE no está asociada solamente a la presencia de patógenos mayores o menores sino que la respuesta depende de la especie de patógeno involucrada en la infección. La mayor respuesta inflamatoria generada como consecuencia del establecimiento de una infección por un patógeno mayor determina un aumento más consistente de los marcadores de inflamación.

La CE absoluta se mostró ineficiente para discriminar casos de IIM independientemente de criterio de caso que fue utilizado, por lo que su empleo como técnica diagnóstica no ofrece más ventajas que la aplicación del azar. La CE diferencial, si bien requirió de la medición de la CE en forma individual por cuarto mamario, generó respuestas discriminatorias significativas ( $p < 0,05$ ) que pueden calificarse desde regulares a moderadas en función del criterio de selección de caso que se utilizó (Fig. 2).

Los valores estimados en este estudio de sensibilidad y especificidad para la CE absoluta medida en cada cuarto mamario independientemente, se encuentran dentro de los valores reportados por otros autores; aun-

que varían de acuerdo al criterio empleado para definir un caso de IIM. Musser *et al.* (1998) estimaron, a un mismo valor de corte, registros de sensibilidad (74%) y especificidad (53%) superiores a los encontrados en el presente estudio cuando determinaron el aislamiento de patógenos como criterio para considerar un caso de IIM. De igual forma, Fernando *et al.* (1985) estimaron valores de sensibilidad (63,6%) y especificidad (76,4%) superiores a los hallados en el presente trabajo empleando criterios similares, aunque el valor de corte fijado fue superior (5,5 mS/cm).

Chamings *et al.* (1984) estimaron, empleando como criterio para la definición de caso el uso conjunto del aislamiento de patógenos y alto RCS, valores de sensibilidad (67,3%) y especificidad (93,5%) muy similares a los de este estudio pero fijando un valor de corte muy superior (6,8 mS/cm). Por su parte, Fernando *et al.* (1982) y Sheldrake & Hoare (1981), utilizando como criterio para la selección de casos de IIM el aislamiento de patógenos mayores, estimaron valores de sensibilidad (62,8% y 49%, respectivamente) y especificidad (93,5% y 79%, respectivamente) similares a los del presente estudio, pero fijando un valor de corte superior (5,6 mS/cm y 6,0 mS/cm; respectivamente).

Empleando como parámetro diagnóstico la CE diferencial, los valores de sensibilidad y especificidad fueron comparables a los reportados por Musser *et al.* (1998) a similares valores de corte, empleando como criterio de selección de casos el aislamiento positivo de patógenos mamarios. A igual valor de corte, Fernando *et al.* (1982) reportaron valores de sensibilidad (66%) inferiores a los de este estudio pero con mayor especificidad (91,5%), cuando el criterio de selección fue el aislamiento de patógenos mayores.

Considerando la prevalencia a campo de IIM, esta técnica genera un VP+ sumamente bajo, dado que por cada 100 animales que

fueran considerados positivos a la prueba, tan solo 37 presentarían IIM. El VP+ se ve afectado fundamentalmente por la especificidad de la prueba diagnóstica y dado que la misma es baja para la presente prueba, genera que una baja proporción de animales positivos esté realmente padeciendo la enfermedad. Por otra parte, el VP- de la prueba diagnóstica genera que cada 100 animales considerados negativos, 89 estén verdaderamente sanos. Esta baja proporción de diagnósticos falsos negativos, a pesar de que la enfermedad presenta una alta prevalencia, se debe a que la prueba tiene una sensibilidad moderada. Si la aplicación de programas de control logra reducir la prevalencia de animales con IIM, el VP- de la prueba se incrementará, mientras que el VP+ será aún menor. Dado que el objetivo de los establecimientos lecheros es implementar programas de control para reducir la prevalencia de IIM, esta técnica diagnóstica se ofrece como una alternativa útil como prueba tamiz.

Si bien la sensibilidad y especificidad de la CE aplicada a cada cuarto mamario en forma independiente no fueron muy altas, la técnica presenta potencial para identificar animales con disturbios secretorios mamarios. Sin embargo, en la práctica, estos aparatos no se usan en forma continua a diferencia de los equipos en línea, hecho que limita su valor en la identificación precoz de un caso subclínico. Si bien este hecho limita la utilidad de este método, el bajo costo de la prueba y su aceptable discriminación la convierten en un auxiliar de valor para el diagnóstico de casos individuales.

## CONCLUSIONES

La medición de la CE como técnica para diagnosticar IIM tuvo mejor desempeño cuando se realizaron mediciones a partir de

leche proveniente de cada cuarto mamario. La CE absoluta de la leche en pool se mostró ineficiente para discriminar los casos de IIM, a diferencia de la CE diferencial que requiere la determinación de valores de CE independiente para cada cuarto mamario. Si bien el poder discriminatorio de la prueba diagnóstica varía según el criterio de caso de IIM que se utilice, las áreas bajo la curva ROC fueron moderadas con valores de sensibilidad cercanos al 80%, aunque la tasa de falsos positivos es de aproximadamente el 50%. Si bien los valores estimados de sensibilidad y especificidad de la CE aplicada a cada cuarto mamario en forma independiente no fueron muy altas, la técnica resulta de utilidad para identificar precozmente animales con infección intramamaria, siendo una técnica diagnóstica de bajo costo fácil determinación y resultado inmediato.

## BIBLIOGRAFÍA

- ASOCIACIÓN ARGENTINA DE LUCHA CONTRA MASTITIS.** 1983. Estimación de las pérdidas en volumen de producción de leche provocadas por la mastitis bovina en la República Argentina. Com. Fed. Lechería Arch. Lechería 6:73.
- BARTH, K. & KRAETZL, W. D.** 2000. Influence of the treatment of subclinical mastitis on the electric conductivity of before ejection. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 113: 440-443.
- BECK, H.; WISE, W. & DODD, F.** 1992. Cost benefits analysis of bovine mastitis in the UK. Journal of Dairy Research. 59: 449-460.
- BIGGADIKE, H.; OHNSTAD, I.; LAVEN, R. & HILLERTON, J.** 2002. Evaluation of measurements of de conductivity of quarter milk samples for the early diagnosis of mastitis. Veterinary Record. 150: 655-658.
- BIGGADIKE, H.; OHNSTAD, I. & HILLERTON, E.** 2000. A Practical Evaluation of Milk Conductivity Measurements. Proceedings British Mastitis Conference, Shepton Mallet. p: 56-61.
- CARTER, G. R.; CHENGAPPA, M. M.; ROBERTS, A. W.** 1995. *Staphylococcus*. In: CARTER, G.R.; CHENGAPPA, M.M. & ROBERTS, A.W. (Eds.) Essentials of Veterinary Microbiology. Williams & Wilkins, Baltimore, 5<sup>th</sup> p. 115-120.
- CHAMINGS, J. R.; MURRAY, G. & BOOTH, J. M.** 1984. Use of a conductivity meter for the detection of subclinical mastitis. Veterinary Record. 114: 243-245.
- DAVIS, J.G.** 1975. The detection of sub-clinical mastitis by electrical conductivity measurements. Dairy Industries. 286-291.
- EMANUELSON, U.; OLSSON, T.; HOLMBERG, O.; HAGELTORN, M.; MATTILA, T.; NELSON, L. & ASTRÖM, G.** 1987. Comparison of some screening tests for detecting mastitis. Journal of Dairy Science. 70: 880-887.
- FERNANDO, R. S.; RINDSIG, R. B. & SPAHR, S. L.** 1982 Electrical conductivity of milk for detection of mastitis. Journal of Dairy Science. 65: 659-664.
- FERNANDO, R. S.; SPAHR, S. L. & JASTER E. H.** 1985. Comparison of electrical conductivity of milk with other indirect methods for detection of subclinical mastitis. Journal of Dairy Science. 68: 449-456.
- FIL/IDF.** 1999. Suggested interpretation of mastitis terminology. Bull. Int. Dairy Federation, Brussels, Belgium. N°338: 3-26.
- GEBRE-EGZIABHER, A.; WOOD, H.C.; RIBAR, J. D. & BLANKENAGEL, G.** 1979. Evaluation of automatic mastitis detection equipment. Journal of Dairy Science. 62: 1108-1114.
- HAGELTORN, M. & SAAD, M. A.** 1986. Flow cytometric characterization of bovine blood and milk leucocytes. American Journal Veterinary Research. 47: 2012-2016.

- HANDLEY, J. A. & McNEIL, B. J.** 1982. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology*. 143: 29-36.
- HILLERTON, E.** 2000. Detection Mastitis Cow-side. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings. p. 48-53.
- HOGAN, J. S.; GONZALES, R. N.; HARMON, R. J.; NICKERSON, S. C.; OLIVER, S. P.; PANKEY, J. W. & SMITH, K. L.** 1999. Laboratory Handbook on bovine mastitis. National Mastitis Council Inc. Madison, WI. Pp. 222.
- JENSEN, N. E. & KNUDSEN, K.** 1991. Interquarter comparison of markers of subclinical mastitis: somatic cell count, electrical conductivity, N-acetyl-b-glucosaminidase and antitrypsin. *Journal of Dairy Research*. 58: 389-399.
- JONES, G. M.** 1998. Mastitis Cost? Dairy Pipeline: December of 1998, Virginia Cooperative extension. Virginia Polytechnic Institute and State University. Actualización 7 de Noviembre de 2000. <http://www.dasc.vt.edu/jones/mastcost.htm>.
- LAKE, J. R.; HILLERTON, J. E.; AMBLER, B. & WHEELER, H.C.** 1992. Trials of a novel mastitis sensor on experimentally infected cows. *Journal of dairy Research*. 59: 11-19.
- LESCOURRET, F. & COULON, J.B.** 1994. Modelling the impact of mastitis on milk production by dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 77: 2289-2301.
- LINZELL, J. L. & PEAKER, M.** 1972. Day to day variations in milk composition in the goat and cow as a guide to the detection of subclinical mastitis. *British Veterinary Journal*. 128: 284-295.
- LINZELL, J. L. & PEAKER, M.** 1975. Efficacy of the measurement of the electrical conductivity of milk for the detection of subclinical mastitis in cows: detection of infected cows at a single visit. *British Veterinary Journal*. 131: 447-461.
- MAATJE, K. & ROSSING, W.** 1993. The efficacy of in-line measurement of quarter electrical conductivity. *IDF Mastitis News*. 16: 6-7.
- McDANIEL, B. T.; ANDERSON, K. L. & WILK, J. C.** 1998. Evaluation of simple quick and inexpensive cow-side test to identify subclinical mastitis infections. <http://www2.ncsu.edu/unity/project/www/ncsu/cals/an-sci/ann-rep94/btmcd66.html>.
- MILLER, R. H.; PAAPE, M. J.; FILEP, R. & LINK, S.** 1993. Flow cytometric analysis of neutrophils in cows milk. *American Journal Veterinary Research*. 54:1975-1979.
- MOALLEM, U.; GUR, P.; SHPIGEL, N.; MALTZ, E.; LIVSHIN, N.; YACOBY, S.; ANTMAN, A. & AIZINBUD, E.** 2002. Graphic monitoring of course of some clinical conditions in dairy cows using a computerized dairy management system. *Israel Veterinary Medical Association*. Vol. 57: [http://www.isrvma.org/article/57\\_2\\_1.htm](http://www.isrvma.org/article/57_2_1.htm).
- MUSSER, J. M.; ANDERSON, K. L.; CABALLERO, M.; AMAYA, D. & MAROTOPUGA, J.** 1998. Evaluation of a hand-held electrical conductivity meter for detection of subclinical mastitis in cattle. *American Journal of Veterinary Research*. 59: 1087-1091.
- NIELEN, M.; SCHUKKEN, Y. H. & HOGEVEEN, H.** 1994. Development of an on-line mastitis detection system within an integrated knowledge-based system for dairy farm management support. *Veterinary Research*. 25: 285-289.
- OSHIMA, M.** 1977. Detection of abnormal quarter milk by the quarter difference of the electrical conductivity and its theoretical basis. *Japan Agricultural Research Quarterly*. 11: 238-245.
- PEAKER, M.** 1978. The electrical conductivity of milk for the detection of subclinical mastitis in cows: comparison of various

- methods of handling conductivity data with the use of cell counts and bacteriological examination. *British Veterinary Journal*. 134: 308-314.
- PILLAI, S. R.; KUNZE, E.; SORDILLO, L. M. & JAYARAO, B. M.** 2001. Application of differential inflammatory cell count as a tool to monitor udder health. *Journal of Dairy Science*. 84: 1413-1420.
- RYSANEK, D.; OLEJNIK, P.; SOKOL, J.; OPLETALA.; PECKA, F.; MAJBOVA, J. & KREJCI, J.** 1984. Analysis of factors affecting the electric conductivity of cow's milk breed, locale, season. *Veterinary Medicine (Praha)*. 29: 89-94.
- SANDHOLM, M.** 1995. Detection of inflammatory changes in milk. *In: The bovine udder and mastitis*. M. Sandholm, T. Honkanen-Buzalski, L. Kaartinen and S. Pyoralää (eds.). University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine. p: 89-104.
- SHELDRAKE, R. F. & HOARE, R. J. T.** 1981. The detection of mastitis in individual quarters using electrical conductivity or somatic cell concentration. *New Zealand Veterinary Journal*. 29: 211-213.
- SHOSHANI, E. & BERMAN, A.** 1998. Subclinical mastitis assessed by deviations in milk yield and electrical resistance. *Journal Dairy Research*. 65: 31-41.